Aus der Prosektur des städtischen Krankenhauses Karlsruhe i. B.

Die

Naphtholblau-Oxydasereaktion der Gewebszellen

nach Untersuchungen am unfixierten Präparat.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

der

hohen medizinischen Fakultät

der

Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg im Breisgau

vorgelegt von

Siegfried Gräff

aus Karlsruhe i. B.

Tag der mündlichen Prüfung: 1. März 1912.

Wiesbaden.

Verlag von J. F. Bergmann.

1912.

Aus der Prosektur des städtischen Krankenhauses Karlsruhe i. B.

Die

Naphtholblau-Oxydasereaktion der Gewebszellen

nach Untersuchungen am unfixierten Präparat.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

der

hohen medizinischen Fakultät

der

Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg im Breisgau

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

vorgelegt von

Siegfried Gräff

aus Karlsruhe i. B.

Tag der mündlichen Prüfung: 1. März 1912.

Wiesbaden.

Verlag von J. F. Bergmann.

1912.

Referent: Herr Geheimrat Aschoff.

Dekan: Herr Geheimrat Kraske.

Druck von Carl Ritter, G. m. b. H., Wiesbaden.

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545315_0033

Unsere heutigen Kenntnisse über die Morphologie der Zelle und der Gewebe verdanken wir in hervorragendem Masse der Anwendung von Farbstoffen. Ihr elektiv färbender Einfluss erleichterte eine allgemeine Orientierung im mikroskopischen Präparat, ermöglichte in der Hauptsache überhaupt erst die morphologische Differenzierung der einzelnen Zell- und Gewebsarten. Damit war aber auch der Bedeutung der Farbstoffe eine gewisse Schranke gesetzt. Denn all' die Theorien über das Wesen des Färbeprozesses konnten bis heute keinen Aufschluss geben über die Natur und Lokalisation der chemischen Substanzen in der Zelle selbst oder etwa über den intrazellulären Chemismus. Auch die morphologisch interessanten Ergebnisse der vitalen Färbung, »ein schwer durchdringbares Konvolut heterogener Erscheinungen« (M. Heidenhain) konnten bis jetzt nur fragmentarisch physiologische Bedeutung gewinnen. Dabei war die Physiologie allzu lange fast ausschliesslich Organphysiologie, als dass die zellulare Forschung der Anatomen und Pathologen von ihrer Schwesterwissenschaft grösseren Vorteil gehabt hätte. Erst seit einer Reihe von Jahren hat sich die Biologie mit lebhafterem und steigendem Interesse die Errungenschaften der Chemie und Physik dienstbar gemacht und so mit Erfolg Anatomen und Physiologen in der Methodik der Zellforschung zu gemeinsamer Arbeit angeregt.

Überblicken wir den heutigen Stand unserer Kenntnisse lediglich in Hinsicht auf die Mikrochemie der Zelle, so sind die bekannten Methoden der frischen Untersuchung mit Essigsäure, Kalilauge und dergl. zum Nachweis der Eiweiss- und Fettsubstanzen als allgemeinste Form

einer, meist noch mit physikalischen Vorgängen verknüpften mikrochemischen Untersuchung anzusehen. Die ganze Reihe der spezifischen Färbemethoden zum Nachweis von Glykogen, Amyloid, Mucin, Elastin, Nukleinsäure usw. können wir wiederum nur bedingt als mikrochemisch ansprechen, da bald die Konstitution des Reagenz oder des Reaktionsmittels, bald der Reaktionsablauf noch nicht im vollem Umfange sichergestellt ist. Immerhin sind wir auf diese Weise imstande, z. T. durch Gruppenreaktionen mit einiger Sicherheit manche organische Produkte der tierischen Zelle in charakterisierter Form lokalisieren zu können. Wenn wir aber bei den Eiweisskörpern noch am allermeisten auf die weitere chemische Forschung angewiesen sind, so lassen andererseits wenigstens die einfacheren Formen der Fettsubstanzen sichere mikrochemische Schlüsse zu, z. B. die Feststellung freier Fettsäuren und fettsauren Kalks durch die Benda'sche Reaktion, die Trennung des ungesättigten Cholesterins von den Cholesterinestern durch Digitonin nach Windaus, u. a. m. Für die mineralischen Zellbestandteile sind die Bedingungen der Untersuchung natürlich relativ günstiger. So kann das Eisen, z. T. auch in maskierter Form, unter dem Mikroskop nachgewiesen werden, ebenso Kalium, Kalzium, Kupfer, die Chloride und Phosphor.

Eine in Bezug auf das Prinzip des chemischen Nachweises abweichende Stellung nehmen die Fermente ein, soweit man hier von einer Methodik überhaupt schon sprechen kann. Es ist, soweit mir bekannt, bisher nur bei zwei Fermenten mit gewissem Erfolg versucht worden, ihre mikroskopische Lokalisation festzustellen; beide Male geschah dies in dem Verfolgen des Gedankens, bestimmte Organe oder Zellarten ihre vitale fermentative Funktion auf ihr Substrat an geeigneten chemischen Substanzen nachahmen zu lassen; hierbei musste das Endprodukt auf irgend eine Weise unter dem Mikroskop sichtbar erscheinen.

Darauf beruht der Nachweis des peptolytischen Ferments durch Glycyltyrosin oder Glycyltryptophan und Bromdämpfen und ebenso die Lokalisation von Oxydationsfermenten durch die Indophenolblausynthese aus α-Naphthol und Dimethylparaphenylendiamin.

Der Untersuchung der letzteren ist diese Arbeit gewidmet.

Die Gesichtspunkte, unter denen die Indophenolblausynthese Verwendung gefunden hat, haben im Laufe der Jahre eine wesentliche Verschiebung erfahren, mussten dies naturgemäss auch, um der physiologischen Bedeutung entsprechend, mit den wechselnden Anschauungen über intrazelluläre Atmung in Einklang zu bleiben.

P. Ehrlich, der ja bekanntlich die Reaktion einführte (1885), sah den intrazellulären Wechsel von Oxydation und Reduktion als eine Funktion des Leistungskerns im Pflügerschen Protoplasmariesenmolekül an. Seine Untersuchungen waren darauf gerichtet, das Maass der oxydierenden resp. reduzierenden Eigenschaften desselben im Verbande der Zellkomplexe der einzelnen tierischen Organe festzustellen. Er injizierte Tieren küpenbildende (autoxydable) Farben wie Alizarin und Indophenol; diese wurden, im Blutserum kreisend, in oxydierter Form als blaue Farbstoffe von den Gewebszellen aufgenommen und entweder in mit Sauerstoff versorgten Geweben unverändert niedergeschlagen oder nach Massgabe der Reduktionsfähigkeit jener Zellen zu den Leukoprodukten reduziert; das Vorhandensein letzterer konnte dann in den Geweben durch Einwirkung von Oxydationsmitteln nachgewiesen werden. Während nun hier das reduzierende Moment als vitale Zelleistung im Vordergrund stand, stellte er durch eine zweite Reihe von Versuchen deren oxydative Fähigkeit fest. Ein Gemisch von $^1/_2$ % α-Naphthol und $^1/_2$ % Paraphenylendiamin, — intravenös injiziert, — ergab eine Bläuung bestimmter Organe, d. h. die Synthese des Indophenolblaus, in diesem Falle des Naphtholblaus aus den angewandten Reagenzien war durch die Oxydationswirkung der «Sauerstoff»-gesättigten Parenchyme über das Leukoprodukt hinaus perfekt geworden. Eine etwaige Bildung des Farbstoffes schon im Blute konnte ausgeschlossen werden. In gewisser Beziehung kontrolliert und bestätigt wurden die Befunde durch Vergleichsversuche mit α-Naphthol und Nitrosodimethylanilin, wobei sich durch Reduktion Naphtholblau bildet.

Ehrlich nahm an, dass sich der gebildete Farbstoff jeweils als körnige Substanz im Protoplasma selbst ablagere.

Er glaubte nun auf Grund dieser Versuche, die Sauerstofforte der Parenchyme des Organismus in drei Zonen einteilen zu müssen: eine solche der höchsten Sauerstoffaffinität, die in Sauerstoff gesättigtem Zustande, nur im Falle des Sauerstoffmangels die Reserve des Protoplasmas darstelle (z. B. Herz und Hirn), eine Zone der wechselnden Oxydation und Reduktion (z. B. Körpermuskulatur und Drüsenparenchyme), und 3. die Zone, die, in dauerndem Reduktionszustand, eine kontinuierliche Zugkraft auf den Blutsauerstoff ausübe. (Hierher gehöre z. B. Lunge, Leber, Fettgewebe).

Ehrlichs Arbeiten scheinen jedoch keine Fortsetzung in dieser Richtung erfahren zu haben.

Aus jener Zeit (1886 und 87) interessiert nur noch die Mitteilung Wursters, dass das nur durch aktiven Sauerstoff angreifbare Di- und

Tetramethylendiamin im tierischen Organismus in blaue Farbstoffe übergeführt werde.

Wieder aufgenommen und verwertet wurden diese Befunde erst, nachdem unter den andern Fermenten auch den Oxydationsfermenten, den Oxydasen durch M. Traube eine Daseinsberechtigung zugesprochen werden konnte. Es wurde somit auch die Feststellung von Röhmann und Spitzer (1895), dass α-Naphthol und Dimethylparaphenylendiamin bei Gegenwart bestimmter Organbreie sich in kürzester Zeit bläuten, von diesen als Ausdruck einer Oxydasewirkung erkannt und die Synthese ebenfalls in die Zellen selbst lokalisiert, da die Körperflüssigkeiten sich als kaum wirksam erwiesen. Die hieran anschliessenden, an Organbreien und -extrakten ausgeführten Untersuchungen anderer Forscher zeitigten die widersprechendsten Ergebnisse und konnten so keine Förderung bringen. Allerdings hatten auch Physiologen und Chemiker längst andere Wege eingeschlagen.

Der Nachweis freien, aktiven Sauerstoffs allein konnte nicht mehr genügen, nachdem man gefunden hatte, dass sich in vitro bei Gegenwart von Organextrakten und -presssäften, also unabhängig von der lebenden, unverletzten Zelle Synthesen ausführen liessen, wie die Oxydation von Salicylaldehyd und Benzylalkohol zu den entsprechenden Säuren (Jaquet 1892), oder aus der aliphatischen Reihe von Formaldehyd zu Ameisensäure (Pohl 1897), denen sich andere Synthesen in der Folge anreihten, chemische Vorgänge, von denen man annehmen durfte, dass sie auch im lebenden Organismus eine bedeutsame Rolle spielten. Man erkannte eine ausschliessliche Einwirkung der Oxydasen der verschiedenen Gewebe, je nach der Konfiguration des Substrats (Alkohole, Aldehyde, Phenole etc.), bei manchen eine spezifische Einstellung auf ganz bestimmte Substrate (z. B. Adenin und Guanin), schritt damit zur Klassifizierung und zur quantitativen Bestimmung.

Die Fähigkeit der Bildung des Indophenolblaus wurde nunmehr den Phenolasen zugeschrieben. Diese oxydieren aromatische Amine und Phenole unter Farbstoffbildung, bläuen Guajaktinktur, wirken jedoch nicht auf Salicylaldehyd. Zu ihrem Nachweis sind noch eine Reihe weiterer Farbreaktionen bekannt, die später Berücksichtigung finden werden.

Einen weiteren Fortschritt bedeutete die Feststellung Winklers (1907), dass in Formol und Alkohol fixierten Präparatabstrichen von polymorphkernigen Leukocyten jeder Herkunft durch alkalisches α-Naphthol und Paraphenylendiamin im Protoplasma blaue Körnchen zur Darstellung gebracht werden könnten, von denen er annahm, dass es

sich um eine unter der Wirkung der Oxydasen vollzogene Färbung von Sauerstoffaffinen Granulationen handle.

Dietrich und Liebermeister hatten schon früher (1902) bei verschiedenen Bakterien, am deutlichsten bei Bac. anthracis mit der Naphtholblaureaktion eine Blaufärbung von Körnchen im Zelleib erzielt und nahmen die Mitwirkung eines oxydierenden Ferments, vielleicht in den Granula selbst, an. Jedoch schloss sich Dietrich später (1908) der Ansicht Meyers an, dass es sich nur um eine Färbung lipoider Substanzen handle, ohne dass der Ort der Sauerstoffübertragung zu erkennen sei; er übertrug nun auch diese Erklärung der Färbung auf die Leukocytengranula Winklers. Weiterhin fand Dietrich in parenchymatös getrübten Nieren, auch bei Leber- und Nierenverfettung eine staubförmige Granulierung normaler Kanälchen, des weiteren feine und gröbere blaue Körnchen und violette Färbung des Fetts; letzteren Umstand schrieb er einer Metachromasie des Farbstoffes zu. Er nahm weiter an, dass das irgendwo gebildete Naphtholblau von den fettartigen Elementen aufgenommen und wohl auch aufgespeichert werde.

In der Folge (1909) dehnte dann W. H. Schultze die Reaktion auf Formol gehärtete Gefrierschnitte aus und fand auch hier Blaufärbung der Granula, hält diese für die Träger des Ferments. Ich erwähne seine Angabe, dass man häufig erkennen könne, wie nur die Peripherie der Granula gefärbt erscheine, während das Zentrum ungefärbt bleibe. Die Differenz der Untersuchungsergebnisse über das Vorkommen der Indophenoloxydase, wie er sie benannte, glaubte er mit dem mehr oder minder grossen Blut- resp. Leukocytengehalt der Organe erklären zu können.

Dieselben blauen Körnchen wurden dann auch in den Speicheldrüsen, in Tränen- und Nickhautdrüse, insbesondere ihre Ausscheidung aus oxydasehaltigen Randzellen der Submaxillaris und Sublingualis verschiedener Tiere in die Sekretkanälchen beobachtet (Schultze, Spanjer-Herford).

Die Bedeutung der Reaktion zur Differentialdiagnose der Leukämien erkannt zu haben, ist ebenfalls das Verdienst von Schultze. Diese Feststellung wurde durch von Jagic wieder in Frage gezogen, da er auch in Zellen, die dem lymphatischen System entstammen sollten, blaue Granula nachweisen zu können glaubte. Der differentialdiagnostische Wert der Reaktion wurde jedoch später durch von Jagic selbst anerkannt, erscheint auch durch eine Reihe von diesbezüglichen Arbeiten anderer Untersucher hinreichend sichergestellt. [1])

[1]) Ausführliche Literaturangaben finden sich u. a. bei Loele, „Das Verhalten der phenolophilen (Oxydase-) Granula“ der Milz „Frankf. Zeitschrift für Patholog. 1912.“

Eine Methode zur Herstellung von Dauerpräparaten wurde von Fursenko angegeben.

Teils von Schultze selbst, teils von andern Forschern (Kreibich, Loele u. a.) wurden eine Reihe weiterer Reaktionen zur Färbung der Granula der Leukocyten und der genannten Drüsen bekannt gegeben, wobei jeweils Oxydasen der spezifische Einfluss auf die Farbstoffbildung zugeschrieben wurde. So empfahl Schultze ein Gemisch von Mikrocidin (Natriumverbindung des β-Naphthols) und Dimethylparaphenylendiaminchlorhydrat, ebenso von α-Naphthol und Paranitrosodimethylanilin. In Adrenalin-, Supra- und Epirenin, schwach alkalischen, synthetischen Suprarenin-Lösungen erzielte man eine Braunfärbung der eosinophilen und neutrophilen Granula der Leukocyten; mit Guajaklösung eine Grünfärbung derselben.

Mit Karbolsäure, Resorcin, Hydrochinon, Pyrogallol, Tyrosin, α- und β-Naphthol gelang es, ev. mit Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd und Ammoniak die Granula verschieden intensiv dunkel zu färben.

Soweit es sich hierbei um ein- oder mehrwertige Phenole und deren Derivate handelte, fasste sie Loele als Phenolreaktiongebende Substanzen zusammen. Die Zersetzung der alkalischen Phenollösung beruhe auf einer Sauerstoffaufnahme aus der Luft, wodurch teils ein Abbau, teils eine Oxydation des Phenols, ev. auch eine Polymerisation der Phenylgruppen unter Bildung der betreffenden Farbstoffe veranlasst werde.

In einer kürzlich erschienenen Arbeit besprach Loele das Verhalten der phenolophilen (Oxydase-) Granula der Milz in Bezug auf die Todesursache der betr. Individuen.

Als Peroxydasereaktion bezeichneten Adler, Fischel eine Blaufärbung der Leukocytengranula mit benzidinmonosulfosaurem Natrium und Wasserstoffsuperoxyd.

Alle diese Färbemethoden bezogen sich, wie gesagt, nur auf die genannten Zellarten. Die allgemeine Bedeutung, das generelle Vorkommen von Oxydationsfermenten in den mannigfaltigsten Geweben des tierischen Organismus, von physiologisch-chemischer Seite einwandsfrei festgestellt und des genaueren erforscht, konnte morphologisch nicht erwiesen, das Ferment nicht lokalisiert werden.

Diese Gegensätze scheinen durch die Ergebnisse der jüngst veröffentlichten Untersuchungen von Gierkes einen gewissen Ausgleich zu finden. Er konnte nachweisen, dass bei Verwendung alkalifreier Lösungen Muskelsubstanz, drüsige Organe und andere Zellarten bei

frischer Untersuchung eine feine Blaufärbung präexistenter Granula erfahren, analog der Färbung der Leukocytengranula[1]). Der ausschlaggebende Unterschied der von Gierke schen Modifikation gegenüber der bisherigen Anwendung der Reaktion bestand also in der Vermeidung von Alkalien zur Herstellung der Lösungen und der Verwendung von nicht fixierten Präparaten.

Auch von Gierke sieht die Granula als Fermentträger an.

Nun muss allerdings den physiologischen Chemikern die Entscheidung vorbehalten bleiben, ob der positive Ausfall der Reaktion lediglich einer bestimmten Gruppe von Oxydasen, wie in diesem Falle den Phenolasen oder einer allgemeineren fermentativen Kraft der Sauerstoffaktivierung und Farbstoffsynthese zugeschrieben werden muss. Eine Fermentwirkung dürfen wir wohl nach dem chemischen und physikalischen Verhalten der in Rede stehenden Substanzen annehmen, da eine diesbezügliche Prüfung sich auch am Präparat durchführen lässt. Gegen eine spezifische Phenolasewirkung spricht jedoch z. B. schon die eine Tatsache, dass die Färbung der Leukocytengranula bei einem Teil der oben angegebenen Reaktionsmittel wie Hydrochinon Adrenalin u. a. der Wirkung einer anderen Oxydase, der Tyrosinase zugeschrieben wird. Auf jeden Fall besitzen diese Feststellungen von Gierkes morphologisch und physiologisch eine grosse Bedeutung. Er macht selbst auf Grund weiterer Untersuchungen auf die Beziehungen dieser Zellgranulationen zum Fettstoffwechsel, zum Glykogenumsatz etc. aufmerksam.

Es ist für mich nicht angängig, irgendwie ein Bild von der historischen Entwicklung geben zu wollen, die die Lehre von den Granula seit ihrem Nachweis in den Leukocyten durch Ehrlich und ihrer allgemeineren Auffassung durch Altmann als Bioblasten genommen hat.[2]) Die Nomenklatur beweist zur Genüge, wie vielseitig sie biologisch in Anspruch genommen wurden.

Soweit die Arbeiten der Autoren Beziehungen erwarten lassen zu den durch von Gierke gefundenen Granula erwähne ich kurz, was mir im Rahmen dieser Arbeit inbezug auf Morphologie und Funktion

---

[1]) Nach dieser Färbemethode von Gierke's konnte ich dann auch in den verschiedensten Gewebsteilen von Pflanzen, deren Stoffwechsel nach Untersuchungen von A. Bach, Palladin u. a. ebenfalls weitgehend unter dem Einflusse von Oxydasen steht. blaue Granula, z. T. in sehr reichhaltiger Menge nachweisen.

[2]) Ich verweise u. a. auf M. Heidenhain „Plasma und Zelle", wo die Lehre von den Granula eingehend erörtert ist.

der Granula allgemein wichtig erscheint, schliesse von vorne herein die passiven, paraplasmatischen Granulationen aus.

Verworn weist auf Grund der Arbeiten von Bütschli, Rhumbler u. a. den Granula ihren Platz, wenn er sagt: «Das Protoplasma besteht aus einer in manchen Fällen anscheinend vollständig homogenen, in vielen Fällen aber sehr feinen schaumartig oder wabenartig strukturierten Grundmasse, in der eine mehr oder weniger grosse Menge von verschiedenartigsten geformten Elementen oder Granula eingeschlossen liegt. Bei dem schaumartigen Protoplasma liegen die Granula immer in den Ecken und Kanten, wo die Schaumvakuolen zusammenstossen, niemals in der Flüssigkeit der Schaumwaben selbst.»

In physiologisch-chemischer Richtung griff Arnold die Ansichten von Altmann, Krehl, Metzner u. a. wieder auf, die den Beweis erbracht zu haben glaubten, dass Fettansatz stets an die Granula des Zellleibs gebunden sei, indem diese durch biochemische Tätigkeit Fett in sich aufspeicherten. Arnold betonte mehrfach, auf Grund seiner Untersuchungen mit Hülfe der vitalen und supravitalen Färbung, dass seine Plasmosomen durch Umsatz von Fett in Fettgranula umgewandelt würden, indem sie entweder das Fett aus von aussen zugeführtem Material synthetisch aufbauten oder ev. einen intrazellulären Zerfall der Eiweisskörper vermittelten. Er schliesst dies aus dem analogen intrafilaren Vorkommen von Plasmosomen und Fettgranula in Muskel, Leber etc.; er räumt den Plasmosomen überhaupt eine wichtige Stellung ein, indem er auch Beziehungen des intrazellulären Glykogen- und Eisenstoffwechsels zu jenen herstellt. Die Fettgranula der Leukocyten spricht Arnold ebenfalls als umgewandelte Plasmosomen an.

Auch E. Albrecht weist auf die Beziehungen hin der gegen Kalilauge resistenten, mit Neutralrot färbbaren, später von ihm Liposomen benannten Granula der Muskelfasern zu den gleichfalls reihenförmig die Fibrilleninterstitien ausfüllenden Fettröpfchen. Des weiteren bringt er die Liposomen in Beziehung zu den aus der tropfigen Entmischung resultierenden Cytostagmen; er fand sie öfters diesen Cytostagmen anliegen und bei Neutralrotfärbung der Liposomen die Farbe in eine lipoide Hülle jener Tropfen übergehen. Auch führt er die Bildung der postmortalen bei der künstlichen Autolyse auftretenden, Neutralrot färbbaren, einfach brechenden Myelinfiguren auf die Mitwirkung der Liposomen zurück.

Albrechts Schüler, Cesa-Bianchi hält es für sehr wahrscheinlich, dass die intrazelluläre, granuläre Synthese des Fetts durch die Liposomen vollzogen wird. Auch er schreibt ihnen eine Bedeutung für die Myelinbildung zu.

Loele sieht sich auf Grund mikrochemischer Untersuchungen (siehe auch oben) veranlasst, für die Granula der Leukocyten neben anderen chemischen Funktionen die Verseifung der Neutralfette als eine Art ihrer Tätigkeit in Erwägung zu ziehen.

Inwieweit nun eine Identität besteht zwischen den auf verschiedene Art nachgewiesenen Granula der Leukocyten und ev. auch mancher Drüsen, zwischen Plasmosomen, Liposomen, Mitochondrien, den von Gierke beschriebenen Granula usw. kann in letzter Linie nur durch die Erkenntnis ihrer funktionellen Bedeutung sichergestellt werden. Immerhin ist eine partielle Übereinstimmung der Lokalisation der so ausserordentlich verbreiteten Granula von Gierkes mit den andern genannten Granula unverkennbar. Erstere scheinen sich z. B. am quergestreiften Muskel mit Plasmosomen und Liposomen weitgehend zu decken. Anderseits müssen wir wohl den Granula entsprechend ihrem differierenden Verhalten in Bezug auf Resistenz, Färbung usw. verschiedene und wechselnde Funktion zuschreiben; so können wir auch bei sonst positiver Oxydasereaktion oft noch sehr viele Granula finden, die keine Blaufärbung erkennen lassen. Wenn wir also die reagierenden Granula von Gierkes als naphtholblauoxydasehaltig, oder indem wir nur allgemein das Moment der Synthese des Naphtholblaus ins Auge fassen, als oxydierende Granula bezeichnen, so ist ihre Funktion betont, über ihre sonstigen chemischen und morphologischen Eigenschaften nichts präjudiziert. Vorbedingung ist allerdings, dass diese Granula nicht nur den anderweitig gebildeten Farbstoff aufspeichern, sondern auch wirklich die Oxydation vermitteln und selbst die Fermentträger sind.

Zur Anstellung der Naphtholblaureaktion verwende ich völlig farblose Gemische, starke Verdünnungen der durch von Gierke angegebenen Lösungen. Die Reaktion tritt vielleicht etwas langsamer ein, jedoch ergeben sich entschieden klarere Bilder; das Gemisch selbst verfärbt sich nicht, es bilden sich erst nach längerer Zeit Niederschläge. Die unterschiedslose blaue Diffusion in das Gewebe als störende Nebenerscheinung kommt dadurch in Fortfall. [1])

[1]) Ich möchte bemerken, dass ich mit den verschiedenen oben genannten und auch anderen Substanzen, die zum Nachweis der leukocytären und ähnlicher Granula dienen, eine entsprechende Färbung der oxydierenden Granula der Organe zu erzielen versucht habe, natürlich mit den nötigen Modifikationen und unter Ausschluss derer, die sich wegen ihrer Granula schädigenden Bestandteile von selbst verbieten. Eine einigermassen gleichwertige Reaktion habe ich nie erhalten, doch scheinen mir weitere Untersuchungen in dieser Richtung immerhin aussichtsreich.

Leider steht uns noch keine Methode des Nachweises der oxydierenden Granula am fixierten Präparat zur Verfügung. Wenn auch Gefrierschnitte geeigneter unfixierter Organe ebenfalls eine intensive Reaktion geben, so muss neben Doppelmesserschnitten vorläufig noch in der Hauptsache die Untersuchung von Zupf- und Quetschpräparaten die Methode der Wahl bleiben. Die Unterscheidung der einzelnen Zellarten, besonders bei der Organuntersuchung begegnet dadurch vermehrten Schwierigkeiten. Immerhin kann man sich die Orientierung bedeutend erleichtern, wenn man nach Bedecken des Präparats mit dem Deckglas ein wenig Lithiumkarminlösung zufliessen lässt. Man erhält eine leichte Kernfärbung, ohne dass die Granulafärbung dadurch beeinflusst wird.

Ich habe systematisch die verschiedenen Elemente der Gewebe gesondert und im Organverbande in geeigneter Präparation untersucht.

Am besten eignen sich natürlich Gewebsstücke von Tieren wie Frosch, Maus, Meerschwein u. a., die sofort nach der Tötung untersucht werden können. Indessen durfte ich die Untersuchung des Sektionsmaterials nicht vernachlässigen, da ja nur dieses in der Hauptsache später für pathologische Verhältnisse in Betracht kommen konnte. Wenn ich nun auch bei Tieren, die nach der Tötung wenige Tage in der Kälte aufbewahrt wurden und erst dann zur Untersuchung kamen, im allgemeinen keine wesentliche Störung des Reaktionsablaufs und keine erheblichen morphologischen Veränderungen vorgefunden habe, so lassen sich diese Befunde nur mit grösster Vorsicht auf den Menschen übertragen; denn die Art der tödlichen Krankheit wird ja in vielen Fällen noch postmortale Veränderungen setzen, die über die Prozesse der aseptischen Autolyse weit hinausgehen. Ich werde auch bei Besprechung pathologischer Prozesse hierauf näher eingehen müssen.

Allgemein betrachtet, finden wir bei positivem Ausfall der Reaktion die blauen Körnchen bald über das ganze Protoplasma gleichmässig verteilt, bald liegen sie in grösserer Anzahl, in vielen Fällen sogar ausschliesslich der Kernwand an. Im Innern des Kernes finden sie sich niemals. Erst nach übermässig langer Einwirkung scheinen sich auch selbständige Niederschläge im Protoplasma zu bilden.

Bei der Untersuchung der einzelnen Präparate ergeben sich nun folgende Bilder. Plattes und zylindrisches, ebenso flimmerndes Epithel in einfacher und mehrfacher Schicht, wie auch Übergangsepithel enthält im Protoplasma oxydierende Granula, die bald gleichmässig verteilt liegen, bald hauptsächlich den Raum gegen die freie Oberfläche der Zelle einnehmen oder nur der Kernwand anliegen. Hingegen lassen

die Endothelzellen der Gefässwände kaum Granula erkennen; verbreiteter sind sie in den Mesothelzellen des Peritoneums und des Perikards. Drüsenzellen scheinen im allgemeinen besonders reich an oxydierenden Granula zu sein. Bindegewebs-Zellen geben meist nur geringe Reaktion, einzelne oft sehr wenige Granula am Rande des Kernes; indes scheint der Reichtum derselben an Granula vom Alter der Zellen abhängig zu sein. Im hyalinen Knorpelgewebe fand ich ebenfalls z. T. Granula, aber oft auch grössere, unregelmässig geformte mattviolette Körnchen. Besonders schöne Bilder gibt die quergestreifte Skelettmuskulatur. Die oxydierenden Granula finden sich in grosser Anzahl im interfibrillären Sarkoplasma in Höhe der anisotropen Schicht. Bald findet man die Längs- bald die Queranordnung stärker hervorgehoben; doch sieht man auch Fasern, in denen die Granula regellos zerstreut zu liegen scheinen. Die Muskelkerne sind oft noch besonders von Granula umgeben. Die Fasern des Herzmuskels geben ein ähnliches Bild. Glatte Muskeln zeigen nur sehr feine Granulierung ohne besondere Anordnung. Die Ganglienzellen weisen meist einen ausserordentlichen Reichtum an oxydierenden Granula auf, während die Gliazellen diese so gut wie ganz vermissen lassen. Leukocyten und Spermien enthalten zahlreiche oxydierende Granula, bald gleichmässig verteilt, bald hauptsächlich der Kernwand anliegend. Doch scheint der Gehalt in den Leukocyten stärkeren Schwankungen zu unterliegen.

Bei der Untersuchung von Organen fällt auf, dass sich selten eine ganz gleichmässige Färbung des Präparats erzielen lässt. Man findet immer Abschnitte, in denen auffallend wenige oder gar keine Granula ein blaues Farbkorn tragen. Ich glaube nicht, dass man dies allein damit erklären kann, dass die Flüssigkeit des Gemisches oder der Sauerstoff der Luft hier irgendwie an einer genügenden Einwirkung gehindert gewesen wäre. Ebenso noch unerklärt ist mir die Tatsache, dass sich manchmal statt Bläuung eine Braunfärbung der Granula oder mehr braune Diffusion in bestimmten Gebieten findet. Eine Partialwirkung der Komponenten des Gemisches scheint mir nicht der massgebende Faktor zu sein.

Nicht selten findet man auch einen schwachen violetten Ton des Präparats in Organen, in deren Parenchym sich keine oder äusserst wenige oxydierende Granula nachweisen lassen. Ich möchte die Anwesenheit einzelner Gewebsleukocyten hierfür verantwortlich machen, die natürlich immer reagieren und kleinste Mengen von gelöstem Farbstoff an das Gewebe abgeben. Das Parenchym selbst ist in diesen Fällen als Oxydase frei anzusehen.

Leberzellen enthalten sehr reichlich oxydierende Granula, oft mit besonderer Betonung der Anordnung um den Kern. Ebenso die Zellen des Nierenapparates, ohne dass hier allgemein ein einzelner Kanälchenabschnitt besonders bevorzugt wäre; allerdings aber scheinen in den verschiedenen Einzelpräparaten immer bestimmte Kanälchenabschnitte von der Färbung bevorzugt zu werden. Das Milzparenchym muss als oxydasefrei gelten. Die granulierten Leukocyten, die manchmal in grosser Zahl anzutreffen sind, enthalten auch hier selbstredend oxydierende Granula. Die Schleimhaut des Magens- und Darmkanals gibt starke Reaktion; die glatte Längs- und Quermuskulatur ist sehr fein und spärlich granuliert, wodurch das Geflecht des Plexus myentericus in seiner fortlaufenden regelmässigen blauen Granulierung meist umso deutlicher hervortritt.

Die Drüsenzellen des Pankreas wie die Zellen der abführenden Gänge scheinen in gleicher Weise stark granuliert; in anderen Fällen war die Granulierung nur mangelhaft. Die Zymogenkörnchen lassen keinen Zusammenhang mit den oxydierenden Granula erkennen. Die Zellen der Nebenniere von Rinde und Mark besitzen ebenfalls reichlich oxydierende Granula, wenn auch anscheinend nicht ausschliesslich und in verschiedener Menge. (Das Fett der Nebennierenrinde färbt sich violett.) Die Schilddrüsenepithelien geben deutliche Reaktion mit häufiger Anordnung der Granula um den Kern, auch das zwischenliegende Bindegewebe zeigt Körnelung. Eine Ausscheidung der oxydierenden Granula in das Kolloid konnte ich nie beobachten. Die Prostata weist selten vereinzelte oxydierende Granula in den Muskelfasern auf. Die Zellen der Hodenkanälchen zeigen verschiedenen Gehalt an oxydierenden Granula; oft sind sie sehr reichlich, manchmal erscheinen sie nur in geringer Menge. Beim Menschen finden sich grössere und kleinere amorphe Tröpfchen, die sich mehr oder weniger violett färben; mit Sudan erscheinen sie gelblichrot. Man findet auch Ansammlungen dieser Tröpfchen ausserhalb der Zellen. Bei noch nicht geschlechtsreifen Individuen erhält man überhaupt keine oder nur schwache Reaktion.

Die Epithelien und die Zellen der Tunica propria des Uterus enthalten reichlich oxydierende Granula, dagegen findet man solche in den Muskelfasern nur sehr vereinzelt. Eine gewisse Vermehrung der letzteren im Verlauf der Gravidität glaube ich annehmen zu dürfen. Leider stand mir kein Uterus am Ende einer normalen Schwangerschaft zur Verfügung. Sicherlich tritt die makroskopische Verfärbung auch in früheren Stadien der Gravidität rascher ein als beim normalen Uterus;

doch könnte dies, wie gesagt, durch einen grösseren Leukocytengehalt bedingt sein.

Im Zottenepithel der Placenta wie im zwischenliegenden Bindegewebe finden sich reichlich oxydierende Granula.

Bei der Untersuchung der frischen Präparate sah ich manchmal zahlreiche oxydierende Granula am Rande von roten Blutkörperchen sitzen. Ich registriere diesen Befund, ohne zu entscheiden, ob es sich um ausgepresste Zellgranula oder unter Umständen um frei im Serum vorkommende Granula handelt, die sich den roten Blutkörperchen angelagert haben. Von letzteren selbst dürften sie wohl kaum herstammen.

Wenn nun auch allgemein der Gehalt der verschiedenen Zell- und Gewebsarten an blaugekörnten Granula nicht zahlenmässig angegeben werden kann, so lässt er sich doch in Beziehung bringen zur physiologischen Stellung der betreffenden Zellen. Nach O. Hertwig ist die Grösse des Sauerstoffverbrauchs der lebenden Zellen bedingt durch das Mass ihrer funktionellen Tätigkeit. Ich glaube nun auf Grund der angegebenen Befunde den Satz aufstellen zu können, dass der Gehalt der verschiedenen Gewebsarten an diesen nachweisbaren Oxydasehaltigen Granula abhängig ist von der Intensität ihres intrazellulären Stoffwechsels, was in vielen Fällen als Ausdruck der funktionellen Bedeutung dieser Zellen angesehen werden kann.

Ich hatte Gelegenheit, auch einige Embryonen und Feten von Mensch, Rind, Schwein und Maus zu untersuchen. Rinder — (ca. 7—12 cm lang), Schweins- (ca. 10 cm lang) und Mausembryonen zeigten in Herz- und Skelettmuskulatur, in Leber und Nieren, in Magen und Darm deutlich blaue Körnelung sehr feiner Granula. In der Leber eines Rindsembryos (7 cm) fanden sich reichlich intensiv blau granulierte Myelocyten. Zwei menschliche Feten im 6. und 7. Monat zeigten beide äusserst feine Farbkörnelung der Granula in Muskel, Leber, Niere, Nebenniere, Schilddrüse und Thymus.

Eine menschliche Placenta vom 3. Monat enthielt vereinzelte oxydierende Granula.

Die Herstellung von Dauerpräparaten stösst auf Schwierigkeiten. Die Farbkörnchen lösen sich in Alkohol und dergl. und, was noch wesentlicher ist, es findet nach kurzer Zeit im Präparat eine Auskristallisation statt. Versuche nach dem Vorgange Ehrlichs, mit chromsauren Salzen eine Lackverbindung des Naphtholblaus herzustellen, misslangen. Herr Geheimrat Ehrlich Exz. hatte die Liebenswürdigkeit, Herrn Professor von Gierke eine Verwendung von nitrobenzolsulfosaurem Natrium oder von Anthrachinon in Vorschlag zu bringen. Indessen

konnte ich auch hiermit keine befriedigenden Resultate erzielen. In jedem Falle trat die Kristallbildung ein. Da ich diesen Vorgang als einen selbständigen, sekundären Prozess ansehen möchte, werde ich später noch näher hierauf eingehen.

Vermitteln nun diese Granula wirklich die Oxydation, sind sie selbst auch die Fermentträger, wie die Mehrzahl der Untersucher für die Leukocyten und von Gierke für seine Granula annimmt?

Ich möchte versuchen, im Einklang mit den heute herrschenden Anschauungen über die physikalische Chemie der Zelle diese Annahme zu stützen.

Die die Zelle umschliessende Plasmahaut haben wir uns nach Nathansohn, Höber als eine Art Mosaik vorzustellen, in welchem ein Teil der Bausteine aus dem unquellbaren, für Wasser also impermeablent aber lipoiden Cholesterin besteht, und der andere Teil aus einem protoplasmatischen Material mit den Eigenschaften der semipermeablen Membranen, ausserdem für gewisse Fälle der Aktivität, d. h. der Fähigkeit des regulativen Imports und Exports der verschiedenen Betriebsstoffe. Eine Antwort auf die Frage, ob der Wechsel von Funktionszuständen die Permeabilität von Lipoid unlöslichen Substanzen beeinflussen könnte, ist noch nicht zu geben.

Die Permeabilität der cholesterin- und lecithinhaltigen Plasmahaut für Vitalfarben erklärt sich in der Regel aus ihrer Löslichkeit in lipoiden Stoffen (Overton). Anderseits besteht infolge der Fähigkeit dieser Membran, den Import und Export der Zelle zu regulieren, eine temporäre Durchlässigkeit für eine lange Reihe von noch nicht genau abgrenzbaren Stoffen, die jedenfalls im Haushalt der Zelle kaum eine Rolle spielen, denen wir in speziellem Falle α-Naphthol und Phenylendiamin anzureihen berechtigt sind. Denn die Möglichkeit der Permeabilität in die Zelle hinein ist schon durch die erwähnten vitalen Versuche Ehrlichs sichergestellt. Umspült nun das wassergelöste Gemisch von α-Naphthol und Dymethylparaphenylendiamin die oxydierenden Granula, deren lipoide Oberfläche die Diosmose in sie selbst wahrscheinlich unmöglich macht, so erfolgt hier am Rande der Lipoidmembran der Granula die Synthese des Naphtholblaus aus den Substanzen des Gemisches, ermöglicht durch die unmittelbare Gegenwart aktiven Sauerstoffs der intragranulären Oxydasen. [1])

[1]) Ich erinnere daran, dass E. Albrecht bei den roten Blutkörperchen und Alveolarepithelien die Bedeutung der fettartigen Oberflächenschicht u. a. in der Möglichkeit des freien Austausches der Gase zwischen Kapillaren und Alveolaren einerseits, zwischen Blutplasma und Blutkörperchen anderseits gesehen hat.

Die lebende Zelle übt hierbei ihre Funktion des Gasaustausches an diesen nicht physiologischen, zellfremden Substanzen aus. Dies gibt sich nun auch mikroskopisch kund in dem Sichtbarwerden kleinster blauer Körnchen.

Die lokale Beziehung des Farbstoffes zu den einzelnen oxydierenden Granula selbst ist nun weniger von morphologischer als von physiologischer Wichtigkeit. Ich habe den Eindruck, dass bei Beobachtung mit starken Immersionslinsen der Farbstoff jeweils am Rande, also ausserhalb der oxydierenden Granula von Gierkes gelagert erscheint; je nach der Dauer der Einwirkung des Gemisches kann dieses blaue Farbkörnchen verschieden gross sein und schliesslich auch das Granulum völlig überdecken. Besonders bei künstlichem Licht erscheint mir diese Lagerung recht deutlich erkennbar. Wenn wir jedoch berücksichtigen, dass gerade bei sehr starken Vergrösserungen nicht jedes erhaltene Bild als der richtige Ausdruck einer im untersuchten Gegenstand wirklich vorhandenen Struktur anzusehen ist (Abbé, O. Hertwig), lässt sich eine Speicherung des Farbstoffes innerhalb der Granula nicht absolut sicher von der Hand weisen, wenn auch wohl physikalisch-chemisch noch schwieriger zu deuten. Gegen eine sofortige Bindung des Naphtholblaus an irgendwelche Granulasubstanzen spricht nach meiner Meinung wohl auch der Umstand, dass sich der Farbstoff sehr leicht wieder durch Alkohol, Äther etc. extrahieren lässt.

Ich bin mir wohl bewusst, dass ich einen bindenden Beweis für die Lokalisation der oxydierenden Substanzen in den Granula nicht gegeben habe. Es konnte mir nur darauf ankommen, zu zeigen, dass diese Annahme noch am besten und am einfachsten die morphologischen Befunde erklären würde. Die Wahrscheinlichkeit einer solchen Lokalisation kann weiterhin zu einer gewissen Sicherheit werden, wenn die weitere Forschung mit Vorteil und Erfolg sich einer solchen Annahme bedienen und auf ihr weiterbauen kann.

Ich möchte hier nur eine biologische Überlegung in dieser Hinsicht noch anführen. Die Tatsache, dass sich in physiologisch hochstehenden Zellen mit entsprechend regem Stoffwechsel, wie z. B. in Drüsen- und Muskelzellen eine besonders grosse Menge von Granula findet, während Zellen mit mehr mechanischer Funktion, also auch geringem Stoffwechsel wie z. B Bindegewebs- und Knorpelzellen nur wenige Granula aufweisen, spricht allgemein für eine Wechselbeziehung zwischen Stoffwechsel und Granulamenge. Anderseits ist ein mehr oder weniger starker Eintritt der Oxydasereaktion, und damit wohl auch die Grösse des normalen Sauerstoffverbrauchs, ein Massstab für die Inten-

sität des Stoffwechsels der genannten Zellen. Es besteht also eine gleichgerichtete Korrelation des Stoffwechsels einerseits zu der Menge der Granula, anderseits zum Oxydationsvermögen, je nach der physiologischen Stellung der betreffenden Zellen. Dieser Umstand weist doch ebenfalls darauf hin, dass bei einem gleichen Verhältnis der Menge von Granula und von Oxydasen, auch eine biologische Beziehung dieser Zellkomponenten besteht in dem Sinne, dass eben die Granula in quantitativem Verhältnis die Fermentträger sein können und mit grosser Wahrscheinlichkeit auch sind.

Auch unter normalen Verhältnissen erhalten wir nicht immer das typische, reine Bild einer gleichmässigen Granulafärbung, oft treffen wir mehr oder weniger komplizierte Verhältnisse an. Schon das Alter und die verschiedenartige Konzentration des Gemisches zwingt manchmal zur Überlegung über den Vergleichswert einzelner differierender Bilder. Dazu kommt noch die Mitfärbung anderer Substanzen und sonstige Vorgänge, die zur eigentlichen Granulareaktion in Beziehung zu stehen scheinen. Ich möchte hier nur noch einiges hervorheben, und zwar nur auf solche Befunde eingehen, die mir als sekundäre Prozesse aufgefasst, einer Erklärung leichter zugänglich erscheinen.

Meist unwesentlich ist die nachträglich von den Farbkörnchen der Granula ausgehende Diffusion der blauen Farbe in das Protoplasma; ihre Bedeutung kommt wohl dem analog verlaufenden Vorgang bei der vitalen und supravitalen Färbung gleich.

Von weittragender Bedeutung scheint mir jedoch das Verhalten der Fettsubstanzen beim Reaktionsablauf zu sein.

Naphtholblau ist löslich in Alkohol, Äther, Azeton etc.; in Ölsäure löst es sich mit violetter Farbe und verleiht auch mikroskopisch den Tropfen einer Emulsion einen violetten Ton. Anderseits ist ja das Naphtholblau als selbständiges Fettfärbemittel zur Genüge bekannt. Somit muss uns auch die sekundäre Lösung des durch die oxydierenden Granula gebildeten Naphtholblaus in den jenen unmittelbar anliegenden Fettropfen fetthaltiger Organe selbstverständlich erscheinen. Wir haben hier eine Art der Fettfärbung vor uns, die bei positiver Oxydasereaktion umso sicherer eintreten muss, als bei der intrazellulären Anwesenheit des unveränderten Farbstoffes eine gewisse Färbehemmung in Wegfall kommt, wie sie bei den gewöhnlichen Methoden der Fettfärbung immer mehr oder weniger zu berücksichtigen ist, nämlich die Affinität des Fettfarbstoffes zu seinem primären Lösungsmittel. Damit scheint mir auch die Tatsache genügend erklärt, dass die Kontrollen mit Sudan, Indophenolblau und Nilblausulfat oft keine so ausgesprochene Färbung

gerade der kleinen Fettröpfchen geben, wie man sie in der Folge der Naphtholblaureaktion erhalten kann.

Wie gesagt, nur bei positivem Ausfall derselben. Denn vernichten oder paralysieren wir temporär das Oxydationsferment durch längeres Kochen der Organstückchen resp. Einlegen derselben in Formol, Cyankalilösung und dergl., so erhalten wir keine Violettfärbung des Fetts, während die Kontrollen der Fettfarbstoffe die gewöhnliche Einwirkung auf die Fettropfen in der Färbung erkennen lassen. Ebensowenig geht etwa die Synthese von Naphtholblau in vitro vor sich bei Gegenwart von Ölsäure oder den gereinigten Präparaten des Cholesterins, Lecithins etc., während diese Substanzen mehr oder weniger intensiv das in Lösung zugeführte Naphtholblau annehmen.

Die Farbstofflösung innerhalb der tierischen Zelle wird ermöglicht durch die Anlagerung der oxydierenden, blau gekörnten Granula an diese Fettröpfchen. Dieser morphologische Befund kann mehr sein wie eine zufällige Tatsache.

Ich erwähne, dass von physiologischer Seite eine Reihe von Arbeiten vorliegen über eine spezifische Mitwirkung von Oxydasen beim Fettstoffwechsel[1]), erinnere anderseits an teilweise oben erwähnte diesbezügliche Angaben von Autoren, die auf Grund morphologischer Untersuchungen Beziehungen ihrer Granula zum Fettstoffwechsel feststellten. Arnold hält, wie erwähnt, die Fettröpfchen für umgewandelte Plasmosomen, welch letztere in diesem bestimmten Falle sicherlich identisch sind mit den oxydierenden Granula. Dabei müsste es sich nun um eine Volumenzunahme der Granula bis zu jeder beliebigen Grösse der Fetttropfen handeln, ohne dass das eingeschlossene Ferment eine Schädigung erlitte, da der Vorgang doch reversibel sein muss. Nun werden wir mit Sicherheit den Granula gerade wegen ihres Gehalts an Oxydationsfermenten, denen sich doch wohl möglicher Weise noch andere Fermente lokalisatorisch anschliessen werden, eine massgebende Bedeutung im Zellstoffwechsel zuzusprechen haben. Bei der Annahme einer direkten Volumenvergrösserung dieser Ferment tragenden Granula läge nun die Möglichkeit vor, dass hierdurch die Fermentaktivierung in irgend einem Sinne beeinflusst werde. Einerseits könnte dieser Vorgang der Ausdruck einer Schädigung der Zelle sein, als ungünstige Wirkung auf die Fermenttätigkeit gedeutet werden; anderseits könnte er regulativ nützlich sein, vielleicht als Schutzmittel für das Ferment oder zur Erzeugung eines Wirkungsoptimums desselben, veranlasst durch extrazelluläre Einflüsse.

---

1) Siehe Oppenheimer, „Die Fermente“ 1911.

Wenn man sich der Ansicht Arnolds anschliessen wollte, so wäre dies – unter Berücksichtigung der Befunde mit der Oxydasereaktion — die natürliche Konsequenz.

Meine eigenen morphologischen Befunde haben mich veranlasst, eine andere mögliche Art der Fettbildung in Erwägung zu ziehen, wobei die oxydierenden Granula an sich unverändert bleiben, und die Fettbildung, wahrscheinlich unter ihrer chemischen Einwirkung im Protoplasma vor sich geht.

Meine an Sektionsmaterial mit der Naphtholblaureaktion gemachten Untersuchungen brachten mich zur Überzeugung, dass ich hiermit der Deutung der Beziehungen von Fett und Granula nicht näher kommen könnte. Solange die Fragen der Fettinfiltration und -degeneration, der Metamorphose der lipoiden Substanzen und postmortalen myelinigen Umwandlung noch so sehr einer definitiven Klärung harren, kann die von Gierkesche Modifikation der Naphtholblaureaktion erst dann unterstützend und ev. differentialdiagnostisch hierzu beigezogen werden, wenn ihr spezifisch färbender Einfluss auf die Fettsubstanzen dem Wesen nach genügend erklärt und sichergestellt ist. Ich verzichte also darauf, auf die so verschiedenartigen Bilder einzugehen, die am Sektionsmaterial Herz, Skelettmuskel, Leber, Nieren u. s. f. dem Untersucher bieten.

Einfachere Verhältnisse gewährleistet uns der Tierversuch nach dem Vorgange so vieler Autoren, die im Anschluss an die grundlegenden Arbeiten von Lebedeff, Rosenfeld etc. typische Bilder der Verfettungen aufstellen konnten. Ich verwandte fast ausschliesslich weisse Mäuse und bediente mich im allgemeinen der Versuchsanordnung von Arnold und Cesa-Bianchi. Ich mästete mit Rahm, injizierte Seifenlösungen, unterwarf die Mäuse mehrmals wiederholten Chloroformnarkosen, brachte ihnen Phosphoröl auf verschiedene Art bei und setzte sie Dauertemperaturen von 37 ° aus. Die vergifteten Tiere lebten höchstens 3—4 Tage.

Es interessieren hier nur die Befunde, die unmittelbar die Verfettung betreffen. Dabei spielt natürlich die Leber die erste Rolle. Ich konnte die verschiedensten Grade der Verfettung erzielen, unter der Kontrolle der verschiedenen Fettreagenzien. Wir sehen Fettröpfchen auftreten von der Grösse der Granula, sehen Zellen, die von einigen wenigen grossen Fettropfen erfüllt sind, und Übergänge mit kleineren und grösseren Tropfen. Bei Anstellung der Reaktion nun finden wir die Fettropfen hell- bis dunkelviolett und können bei entsprechender Einstellung an ihrem Rande in der grossen Mehrzahl der Fälle ein oder mehrere Granula vorfinden, die ev. noch, meist bei schwach gefärbtem

Fettkügelchen ein blaues Korn tragen. Bei geringgradiger Verfettung kann man noch genügend blaugekörnte Granula finden, ohne dass sie einem Fettkügelchen angelagert zu sein scheinen. Hier finden sich auch manchmal ungefärbte, anscheinend nicht oxydierende Granula. In extremen Fällen erkennt man am Rande der violetten Fettkugeln meist nur ungefärbte Granula (Beobachtung bei künstlichem Licht!), da sie ihren Farbstoff restlos an das Fett abgeben konnten.

Die Nieren, die bei meinen Versuchsanordnungen höchstens geringe Grade der Verfettung aufwiesen, wohl in Folge der akuten Vergiftung, boten im Prinzip dasselbe Bild: Fettkugeln mehr oder weniger intensiv gefärbt mit oxydierenden Granula am Rande.

Herz- und Skelettmuskel zeigten ebenfalls nur in gewissen Fällen Veränderungen. Es konnten manchmal im Sarkoplasma längsgeordnete, ungeformte, ovale oder auch runde, schwach bis intensiv violett gefärbte Tropfen nachgewiesen werden, die am Rande oxydierende Granula trugen, letztere blau gekörnt, je nach dem Aggregatzustand (Gehalt an Ölsäure?) des zugehörenden farblösenden Tropfens. Gerade dieses Bild fordert immer wieder dazu auf, eine nähere Beziehung der oxydierenden Granula zu diesen Tropfen im Protoplasma anzunehmen; man hat gewissermassen den Eindruck, als ob das oxydierende Granulum in der Fettbildung unterbrochen worden wäre durch die neue Aufgabe der Synthese des sichtbaren Farbstoffs. [1])

Unberührt können wir hier vorläufig die Frage der intrazellulären degenerativen oder synthetischen Fettbildung lassen. Verschiedenheiten im Verhalten der Granula gegenüber Neutralfetten und lipoiden Substanzen vermochte ich nicht sicher zu deuten, kann daher auch auf die Bedeutung der Reaktion gegenüber der Glyzerin- und Cholesterinverfettung Aschoffs nicht eingehen.

Erwähnenswert bei diesen Versuchen der Fettspeicherung erscheint mir noch die Tatsache, dass ich in gewissen Fällen von Leberverfettung in Organen, die sich selbst nicht im Zustande einer Verfettung befanden, das Vorhandensein überaus reichlicher Mengen oxydierenden Granula, bezw. zirkumskripter Ansammlungen derselben vorfand, wie sie sonst im allgemeinen nicht anzutreffen waren.

---

[1]) von Gierke hat schon auf diese Gebilde bei Strumen und degeneriertem Muskel aufmerksam gemacht. Ich möchte hierbei erwähnen, dass ich an Sektionsmaterial bei Herz- und Skelettmuskel in benachbarten Sarkoplasmainterstitien oder Fasern die Reihe der verschiedenen Stadien der Fettbildung verfolgen konnte, was natürlich noch charakteristischer erscheint. Doch könnte es sich auch hier z. T. um Übergänge zu autolytischen Prozessen handeln.

Auch die Grösse der Granula scheint in engen Grenzen variabel zu sein. Hier dürften wohl weniger osmotische Druckschwankungen innerhalb der Zelle als vielmehr Vorgänge physiologisch-chemischer Natur in Frage kommen.

In Ergänzung obiger Versuche, anderseits mit Rücksicht darauf, dass von mancher Seite die myelinige Degeneration als pathologisches Stadium der mit der trüben Schwellung identifizierten tropfigen Entmischung gedeutet wird, untersuchte ich Mäuse, die durch protrahierte Verhungerung (langsame Einschränkung der Nahrung) völlig fettlos gemacht waren, deren Leber in diesem Falle das Bild der restlosen, tropfigen Entmischung darbieten. Cesa-Bianchi hat hierbei das völlige Verschwinden der Liposomen in Leber und Nieren festgestellt. Oxydierende Granula finden wir in der Leber in reichlicher Menge, allerdings meist von sehr geringer Grösse. In der Niere sind sie spärlich, der mehrmalige Befund einer braunen Diffusion ist auffallend. Herz- und Skelettmuskulatur zeigen äusserst feine Längsanordnung oxydierender Granula, ohne sich aber über die ganze Länge einer Faser zu erstrecken.

Die engen Beziehungen der myelinigen Degeneration zur Autolyse und andern postmortalen Erscheinungen veranlassten mich, meine Aufmerksamkeit Erscheinungen zuzuwenden, die ich schon oben kurz erwähnt habe und die ich als postvital bezeichnen möchte. Lässt man ein synthetisch naphtholblau gefärbtes Präparat von z. B. normalem Muskel, Leber etc. einige Minuten liegen, so findet man, anscheinend den Zellen aufliegend, nadelförmige, oder sonst geformte, meist blau gefärbte Kristalle und Schollen, deren nächste Umgebung keine blaugekörnten Granula mehr aufweist und als völlig ungefärbter ovaler Hof imponiert. Die Kristalle nehmen zu, die gefärbten Körnchen der Zelle verschwinden, sodass von letzteren nach mehreren Stunden überhaupt nichts mehr zu sehen ist, und an ihrer Stelle auf den ungefärbten Zellen lauter blaue Kristalle erscheinen. Dieselben sind unlöslich in Alkohol, Äther, Azeton, Xylol etc. und beweisen schon dadurch, dass es sich nicht mehr um den reinen Farbstoff Naphtholblau handeln kann, sondern dass eine sekundäre Umsetzung stattgefunden haben muss. Ob es sich hier um eine Art Myelinfiguren handelt, ähnlich den Neutralrot färbbaren Figuren Albrechts, wage ich nicht zu entscheiden.

Im Zustande der aseptischen Autolyse finden wir mit der Zerstörung der allgemeinen Zellstruktur auch keine oxydierende Granula mehr in der typischen Anordnung. Eine schwache, schmutzigviolette diffuse Färbung des Gewebes bleibt oft allein noch übrig; dagegen können sich auch hier Ansammlungen von oxydierenden Granula finden, oft mit

dunkelblauem, undurchsichtigem Zentrum: dass es sich in diesem Falle vielleicht um granulierte Leukocyten handeln sollte, erscheint nach dem morphologischen Bilde unwahrscheinlich.

Ein weiteres, in seiner Deutung noch unklares Bild kann man an Gefrierschnitten von unfixiertem quergestreiftem Muskel zur Darstellung bringen. Legt man einen Schnitt in α-Naphthol allein und nach einigen Minuten in Dimethylparaphenylendiamin, so erhält man kaum eine Körnelung der Granula, jedoch sieht man am Rande der Fasern schollige, z. T. sich verzweigende und bandartig sich ausziehende, dunkelblaue Gebilde, deren Randpartieen und Fortsetzung eine dichtere Ansammlung von blaugekörnten Granula erkennen lassen. Ich möchte hier eine Konzentration und ev. eine Vereinigung der Granula annehmen.

Nicht zu verwechseln sind diese Figuren mit den Verästelungen, die, hauptsächlich bei Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd, den mit Leukocyten und blauviolett gefärbten roten Blutkörperchen gefüllten Kapillaren entsprechen.

Ich gehe nunmehr zu meinen Untersuchungen an pathologischem Sektionsmaterial über. Wie schon mehrfach hervorgehoben, müssen hier die Verhältnisse zu einwandsfreien Ergebnissen umso ungünstiger liegen, als zwischen dem Tod des Individuums und der Möglichkeit der mikroskopischen Untersuchung eine immerhin lange Zeit verstreicht, die oft genügen kann, die Zellen allgemein oder speziell die Granula und ihre Fermente zu schädigen, und die dadurch das ursprüngliche Bild zu verschleiern imstande ist. Ich gebe deshalb meine sämtlichen, diesbezüglichen Befunde nur mit einem gewissen Vorbehalt wieder, und führe lediglich solche Fälle an, die nach meinen mit der Oxydasereaktion gemachten Erfahrungen zum mindesten diskutabel oder durch umfassendere Untersuchungen an grösserem Material leichter widerlegbar sind.

Eine Störung oder Änderung des normalen Ablaufs der Oxydasereaktion kann im wesentlichen durch zweierlei Ursachen bedingt sein:

1. Die Ursache kann in der Zelle selbst liegen.

Regressive Veränderungen jeder Art mit den möglichen Folgen der Nekrobiose können durch Störungen des Zellinnenlebens bedingt sein oder können aus ausserhalb der Zelle gelegenen Ursachen solche Störungen hervorrufen. Es wäre dann zu untersuchen, ob und wieweit ein Einfluss auf die oxydierende Granula sich hierbei bemerkbar macht.

Bei den formativen Zelleistungen gilt es anderseits, die Beziehungen der Granula zu diesen neugebildeten Zellen festzustellen, und

zwar in Bezug auf das regenerative, entzündliche und geschwulstmässige Wachstum.

2. Das morphologische Bild der Oxydasereaktion kann eine Änderung erfahren durch eine pathologische Fermentwirkung selbst, indem die Oxydasen aus gewissen Ursachen heraus in übermässiger oder verminderter Menge produziert und anderweitig chemisch beeinflusst werden, sodass sie allgemein oder auf bestimmte Organe beschränkt, ihre Tätigkeit in entsprechend veränderter Weise entfalten.

Bevor ich an einigen Beispielen dies erläutere, möchte ich mir noch einige allgemeinere Bemerkungen gestatten.

Die spezielle Untersuchung des Präparats beginnt mit der Beobachtung desselben in dem Flüssigkeitsgemisch. Es lassen sich hier schon mancherlei Unterschiede wahrnehmen. Man muss jedoch Alter und Konzentration der Lösungen immer genau berücksichtigen.

Die Geschwindigkeit des Eintritts der Färbung kann sehr verschieden sein. Ja, ich möchte glauben, dass schon physiologisch mit der Zunahme des Alters des Individuums eine Verlangsamung des Reaktionseintrittes statthat. Unter pathologischen Verhältnissen finden sich jedoch stärkere Schwankungen. Die Farbe, die das Präparat erhält, kann statt eines satten Blaus violett bis schmutziggrau sein. Auch kann man hie und da finden, dass das Flüssigkeitsgemisch einen rötlichen Ton annimmt oder sich ungewöhnlich rasch bläut, währenddem das Präparat selbst noch kaum eine Färbung aufweist.

Mikroskopisch kann sich der gestörte Ablauf der Reaktion verschieden äussern. Die Granulakörnelung kann fehlen oder vermindert auftreten. Es kann eine stärkere schmutzigviolette Diffusion in die Zellen hinein platzgreifen, vielleicht auch können sich freie Farbstoffkörnchen bilden. Sodann kann man eine schwachviolette bis blaue Färbung erhalten von Zellsubstanzen und ausserhalb der Zellen im Gewebe liegenden Gebilden in verschiedener Form und Anordnung, deren morphologische und chemische Natur und Beziehung zur Reaktion zum grossen Teil noch klargelegt werden müssen. Soweit sie mit einiger Sicherheit als physiologisch oder als Produkte bestimmter Stoffwechselvorgänge gedeutet werden konnten, habe ich sie teilweise schon oben berücksichtigt. Auch der Eintritt und Verlauf der Kristallbildung ist verschieden. Violettes Fett bildet sich niemals um, blasst allmählich ab; ebensowenig kristallisieren sichere Farbniederschläge.

Wenn ich nun einige wenige Formen pathologischer Veränderung schildere, so übergehe ich hierbei all die erwähnten Einzelheiten gefärbter Körnchen und Strukturen, soweit unmittelbar belanglos.

Ich erwähne zuerst einige atrophische resp. degenerativ-nekrobiotische Prozesse. Bei seniler, Inaktivitäts- und neurotischer Muskelatrophie tritt nur langsam eine schwache schmutzige Färbung ein. Die atrophischen Fasern weisen nur wenige oxydierende Granula auf. Parenchymatöse Trübung der Nieren, Leber usw. scheint die Reaktion an sich nicht zu beeinflussen. Die Beziehungen zur fettigen Degeneration sind oben eingehend erörtert. Bei vorgeschritteneren degenerativen Prozessen, bei manchen Formen der Nephritis, im Zentrum von frischen Infarkten finden wir die Zellen fast frei von oxydierenden Granula, dagegen ev. eine stärkere missfarbene Diffusion, vielleicht auch freie blaue Körnchen. Hier könnte möglicherweise eine Schädigung der Granula das Ferment in Freiheit gesetzt haben und so zu nicht mehr lokalisierter Wirkung in der Zelle haben kommen lassen.

Von produktiven Prozessen erwähne ich die Leberzirrhose. Das neugebildete Bindegewebe wies in meinen Fällen überhaupt keine oxydierenden Granula auf; in den Leberzellen fanden sie sich auch nur in verminderter Menge. Die Zellen des tuberkulösen Granulationsgewebes zeichnen sich ebenfalls durch ihren Mangel an oxydierenden Granula aus. Abgesehen von schwach gefärbten Detrituskörnchen fanden sich nur einzelne Zellen blau granuliert, die wohl mit Sicherheit als polymorphkernige Leukocyten angesprochen werden konnten. Bei einem Hodgkinschen Granulom fand ich sehr zahlreiche oxydierende Granula, die in den kurzspindligen Zellen und eosinophilen Leukocyten zu liegen schienen.

Die Reaktion bei einigen von mir untersuchten Geschwülsten entsprach in der epithelialen Reihe der Herkunft der Zellen. Adenome der Schilddrüse u. a. zeigten um den Kern und im Protoplasma zerstreut reichlich oxydierende Granula. Auch in Karzinomen fanden sie sich neben violettem Fett in grosser Menge. Ein Spindelzellensarkom der Niere gab keine Reaktion [1]). Nach einer persönlichen Mitteilung von Herrn Professor von Gierke fanden sich auch in Mäusetumoren reichlich oxydierende Granula. Auch die Befunde von nekrobiotischem Tumorgewebe glichen denen der gewöhnlichen Nekrobiose.

Nunmehr bleiben noch die Fälle zu erwähnen übrig, bei denen ich eine gestörte Fermentwirkung annehmen möchte, und gerade

[1]) Auch einige weitere, von mir untersuchten Geschwülste, die der Bindegewebsreihe zugerechnet werden, wiesen so gut wie keine oxydierende Granula auf. Es würden diese Befunde in Einklang stehen mit der von Goldzieher bei den Verhandlungen der patholog. Gesellschaft in Strassburg 1912 gemachten Angabe, dass nach seinen mit anderen Methoden gemachten Untersuchungen den Sarkomen ein bedeutend geringeres oxydatives Vermögen zukomme als den Karzinomen.

diese fordern aus den oben genannten Gründen besonders kritische Betrachtung. Einen besonders langsamen Eintritt der Reaktion und mikroskopisch spärliche Körnelung der Granula habe ich in einer grossen Zahl von Fällen bei ausgesprochener Kachexie im Anschluss an maligne Tumoren, Tuberkulose, in einzelnen Fällen von akuten Infektionskrankheiten und bei einer tödlichen Verbrennung gefunden. Die Störung im Reaktionsablauf betraf hierbei jeweils sämtliche untersuchten Organe in einem Falle von Pädatrophie nur Herz- und Skelettmuskel, während Leber und Nieren stark reagierten. Endlich erwähne ich noch zwei Fälle von Eklampsie. Der eine gab äusserst geringe, der andere überhaupt keine Reaktion von Muskel, Herz, Leber, Niere, Uterus und Placenta.

Blausäure wirkt hemmend auf verschiedene Fermente, weshalb ich ev. auch eine Änderung des Reaktionsablaufes bei der Naphtholblaureaktion annehmen musste. Denselben Gedanken äusserte Raubitschek in der Diskussion beim Ärzte- und Naturforschertag in Karlsruhe 1911. Ich vergiftete also Mäuse, indem ich sie einer Atmosphäre von Blausäure aussetzte; die Reaktion verlief jedoch wie gewöhnlich, wohl infolge der Flüchtigkeit des Gases, während, wie bereits erwähnt, Präparate, die kurz in einer wässerigen Lösung von Zyankali lagen, sich erst nach längerer Zeit wieder bläuten.

Für eine gesteigerte Fermenttätigkeit sprechen vielleicht auch einige Befunde. Ich erinnere an die schon durch von Gierke festgestellte Tatsache, dass die Basedowsche Schilddrüse sich durch besonders reichliche Granulationen auszeichne. Ein partielles überreichliches Vorkommen von oxydierenden Granula in Fällen hochgradiger Leberverfettung habe ich schon erwähnt; denn gleichen Befund erhob ich bei einer hochgradigen Amyloidinfiltration der Nieren.

Ich halte es nun nicht für angängig, die Reihe der genannten Fälle pathologischer Fermentwirkung ätiologisch oder symptomatologisch von vorne herein als solche der Oxydationsfermente hinzustellen. Solange wir nicht den Einfluss von Aktivatoren und Paralysatoren, insbesondere speziell von Kinasen und Antifermenten auf die Oxydasen genauer kennen, wird auch die Lösung der Frage schwierig bleiben, von wo diese Hemmungserscheinungen oder gesteigerten Umsetzungen des Stoffwechsels ihren Ausgang genommen haben könnten. Vielleicht wird es möglich sein, den Einfluss der Katalase, die ja wohl sicher bei den Oxydationsprozessen eine vital noch unbekannte Rolle spielt, durch Anwendung von Wasserstoffsuperoxyd oder Äthylhydroperoxyd mikrochemisch festzustellen, und auf diesem Wege eine Klärung dieser ver-

wickelten Verhältnisse herbeizuführen. Gewisse Änderungen des Reaktionsablaufs habe ich bei Verwendung von Wasserstoffsuperoxyd immerhin erzielen können.

Ich habe im allgemeinen vermieden, aus meinen genannten Befunden, besonders denen pathologischer Art, diejenigen Schlüsse zu ziehen, die sich mir in morphologischer und physiologischer Hinsicht in einzelnen Fällen aufgedrängt haben. Es lag mir hauptsächlich daran zu zeigen, wie viele Fragen, die heute noch der definitiven Klärung harren, Anregung und Förderung erfahren können von neuen Gesichtspunkten aus, die durch die Befunde von Gierkes überhaupt erst gewonnen werden konnten. Doch hier jeweils eine Antwort zu geben, wie noch auf manche andere unberührte, die Naphtholblaureaktion betreffenden Fragen, muss der Einzelarbeit von morphologischer und physiologischer Seite aus vorbehalten bleiben.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, meinem verehrten Chef und Lehrer, Herrn Professor von Gierke, für die Überlassung dieser Arbeit, für die rege Unterstützung und Förderung durch seinen Rat meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Herrn Geheimrat Aschoff spreche ich meinen Dank aus für die liebenswürdige Übernahme des Referats.

Literaturangaben.

Albrecht, E. Pathologie der Zelle in Lubarsch-Ostertag, Ergebn. VI u. VII.

Derselbe. Neue Beiträge zur Pathologie der Zelle. Verhandl. d. deutschen path. Gesellschaft V, 1902.

Derselbe. Experimentelle Untersuchungen über die Kernmembran. Beitr. z. path. Anat., Festschrift für Bollinger, 1903, S. 117.

Derselbe. Über trübe Schwellung und Fettdegeneration. Verh. d. deutsch. path. Ges. VI, 1903.

Derselbe. Über die Bedeutung myelinogener Substanzen im Zelleben. Ebenda S. 95.

Derselbe. Die physikalische Organisation der Zelle. Frankf. Zeitschr. f. Path. 1, 1907, S. 22.

Altmann. Die Elementarorganismen. Leipzig 1904.

Arnold. Über Fettumsatz und Fettwanderung, Fettinfiltration und Fettdegeneration, Phagocytose, Metathese und Synthese. Virch. Arch. 171, S. 197.

Derselbe. Über Fettkörnchenzellen, ein weiterer Beitrag zur Granulalehre. Virch. Arch. 163, S. 1.

Aschoffs Lehrbuch: Pathologische Anatomie. 2. Aufl.

Aschoff, L. Zur Morphologie der lipoiden Substanzen. Zieglers Beitr. 47, 1910.

Bach. Die langsame Verbrennung und die Oxydationsfermente. Fortschr. der naturw. Forschung, Bd. I, S. 85 (1910).

Batelli und Stern. Die Katalase. Asher-Spiro, Ergebn. d. Physiol., Bd. X (1910), S. 531.
Cesa-Bianchi, D. Leber- und Nierenzellen während der Verhungerung. Frankf. Zeitschr. f. Path. III (1909), S. 723.
Derselbe. Beobachtungen und experimentelle Untersuchungen über die fettige Degeneration und Myelindegeneration. Ebenda S. 795.
Eisenberg, Ph. Über Fettfärbung. Virch. Arch. 199, S. 502.
Fischer. Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena 1899.
Fischler, F. Über den Fettgehalt in Niereninfarkten, zugleich ein Beitrag zur Frage der Fettdegeneration. Virch. Arch. 170, S. 100.
Fränkel, S. Dynamische Biochemie 1911.
von Gierke. v. Kahldens Technik der histologischen Untersuchung. 8. Aufl. Jena 1909.
Gurwitsch. Morphologie und Biologie der Zelle. Jena 1904.
Heidenhain, M. Plasma und Zelle. Jena 1907.
Hertwig, O. Allgemeine Biologie Jena 1906.
Höber. Die physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. Leipzig 1911.
Jaquet. Über die Bedingungen der Oxydationsvorgänge in den Geweben. Arch. f. exper. Pathol. 29 (1892).
Macallum, A. B. Die Methoden und Ergebnisse der Mikrochemie in der biologischen Forschung in Ergebn. d. Physiol. VII. 1908.
Masuda. Untersuchungen über die Zellfunktion mit Hilfe der vitalen Färbung. Arch. f. experim. Pathol. u. Ther., Bd. IX (1911).
Michaelis, L. Biochemie der Zelle, in Oppenheimers Handbuch der Biochemie. 1909.
Oppenheimer, C. Die Fermente. Leipzig 1910.
Pohl. Zur Kenntnis des oxydativen Ferments. Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. 38. 1907.
Salkowski. Zur Kenntnis des Oxydationsferments der Gewebe. Virch. Arch. 147. S. 1.
Samuely. Tierische Fermente, in Oppenheimers Handbuch der Biochemie. 1908.
Schmaus u. Albrecht. Zur funktionellen Struktur der Leberzelle. Festschrift zum 70. Geburtstage von Kupffers. 1900.
Stöhr. Lehrbuch der Histologie.
Traina. Fett und Granula bei Marasmus und Hungerzuständen. Zieglers Beitr. 35. 1904.
Verworn. Allgemeine Physiologie. Jena 1909.
Walbaum. Untersuchungen über die quergestreifte Muskulatur mit besonderer Berücksichtigung der Fettinfiltration. Virch. Arch. 158, S. 170.
Wohlgemut, I. Pathologische Fermentwirkungen. Berl. klin. Wochenschr. 1910. 48 u. 49.

Spezielle Literatur über die Indophenolblausynthese und den mikrochemischen Nachweis von Oxydationsfermenten.

Ehrlich, P. Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. Berlin 1885.
Wurster. Über einige empfindliche Reagenzien zum Nachweis minimaler Mengen aktiven Sauerstoffs. Berichte der deutsch. chem. Gesellsch. 19 (1886), S. 3196.
Derselbe. Archiv f. Physiologie. 1887.
Dietrich u. Liebermeister. Sauerstoffübertragende Körnchen in Milzbrandbazillen. Zentralblatt f. Bakteriologie, Bd. 32 (1902).
Röhmann u. Spitzer. Über Oxydationswirkungen tierischer Gewebe. Bericht der deutschen chem. Gesellsch., 28, S. 569. 1905.
Winkler. Der Nachweis von Oxydationsfermenten in den Leukocyten. Fol. hämatol. 4. 1907.

Dietrich. Naphtholblausynthese und Lipoidfärbung. Zentralbl. f. Pathol. 1908.
Schultze, W. H. Zur Differentialdiagnose der Leukämien. Münch. med. Wochenschrift 1909, Heft 4.
Derselbe. Die Oxydasereaktion an Gewebsschnitten und ihre Bedeutung für die Pathologie. Ziegl. Beitr. 45. 1909.
von Jagic. Über die Granulationen der weissen Blutkörperchen. Berl. klin. Wochenschrift 1909, S. 1206.
von Jagic u. Neukirch. Über das Auftreten grosser mononukleärer Zellen im Blute chronischer Myelämien. Berl. klin. Wochenschr. 1910, S. 874.
Fischel. Der mikroskopische Nachweis der Peroxydase. Münch. med. Wochenschr. 1910, S. 1203.
Kreibich, C. Mitteilungen über eine Leukocytendarstellung durch Adrenalin. Münch. med. Wochenschr. 1910, S. 1204.
Loele. Kurze Mitteilung einiger Methoden zum Nachweis oxydierender und reduzierender Substanzen des Körpers. Münch. med. Wochenschr. 1910, S. 1394.
Kreibich. Über Oxydasen und Peroxydasen. Wiener klin. Wochenschr. 1910, S. 1443.
Schultze, W. H. Weitere Mitteilungen über Oxydasereaktionen an Gewebsschnitten. Münch. med. Wochenschr. 1910, S. 2171.
Fursenko, B. Über die Granulafärbung mit α-Naphthol und Dimethylparaphenylendiamin. Zentralbl. f. pathol. Anat., Bd. 22, 1911.
Spanjer-Herford. Vergleichende Untersuchungen mit der Indophenol-Oxydasereaktion an Speichel- und Tränendrüsen der Säugetiere. Virch. Arch. 205, Heft 2.
von Gierke. Die oxydierenden Zellfermente. Münch. med. Wochenschr. 1911, Heft 44.
Loele. Das Verhalten der phenolophilen (Oxydase-)Granula der Milz. Frankf. Zeitschr. f. Pathol. 1912, Heft 3.

Lebenslauf.

Ich, Siegfried Wilhelm Gräff, bin geboren am 22. März 1887 in Karlsruhe i. B. als Sohn des Buchhändlers Wilhelm Gräff und seiner Ehefrau Johanna, geb. Rudolf. Nach Besuch der Seminarvorschule in meiner Heimatstadt besuchte ich ebenda das Reformgymnasium, in der Folge die gymnasiale Abteilung desselben und bestand dort im Juli 1905 das Abiturientenexamen. Ich besuchte die Universitäten Strassburg, Heidelberg, genügte hier meiner Militärpflicht, dann Freiburg, wo ich 1908 das medizinische Vorexamen bestand. Dann ging ich nach Leipzig, Berlin und wieder nach Freiburg und blieb hier bis zur Vollendung des Staatsexamens am 12. Dezember 1910. Vom 19. Dezember 1910 bis 1. Juni 1911 war ich an der inneren Abteilung der ev. Diakonissenanstalt zu Karlsruhe i. B. tätig, sodann bis zur Beendigung des Medizinalpraktikantenjahres an der Prosektur des städt. Krankenhauses zu Karlsruhe i. B. Dort machte ich auch meine Untersuchungen zu der vorliegenden Arbeit und setzte sie bis Februar 1912 ebenda fort.

Druck von Carl Ritter, G. m. b. H.
Wiesbaden.